

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Perikanan Fakultas Pertanian-Peternakan (FPP) serta Laboratorium Nutrisi UMM pada bulan Mei- Juli 2019.

#### 3.2 Bahan dan Alat

##### 3.2.1 Bahan

**Tabel 1. Bahan dan fungsi yang dipakai dalam kegiatan penelitian**

Bahan	Fungsi
Benih ikan lele dumbo	Hewan uji dalam penelitian
Pakan benih	Pemberi nutrisi bagi benih ikan lele yang di uji
Probiotik	Bahan uji dalam penelitian
Air tawar	Pelarut probiotik serta media tempat hewan uji hidup
Garam grosok	Bahan untuk memperbaiki kualitas air
Mollase	Bahan pembuatan probiotik
Yakult	Bahan pembuatan probiotik
Ragi Tape	Bahan pembuatan probiotik
Bakteri Starter	Bahan pembuatan probiotik
Air kelapa	Bahan pembuatan probiotik
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (95-97%)	Pereaksi pada saat proses destruksi
Katalisator (bubuk tablet kjedahl buatan Merck)	Bubuk uji protein
Indikator PP 1 %	Cairan untuk menentukan suatu asam basa
NaOH 50%	Untuk proses titrasi protein (0,1 N)
HCl 0,1 N	Cairan untuk menangkap larutan hasil destilasi atau larutan uji protein
Zinc Powder/Zn	Untuk meratakan panas pada saat proses destilasi
Aquades	Pengencer bahan uji

### 3.2.2 Alat

**Tabel 2. Alat dan fungsi yang dipakai dalam kegiatan penelitian**

Alat	Fungsi
Akuarium	Wadah penelitian
Kran aerasi	Pengatur besar kecilnya oksigen
Selang aerasi	Pengalir dan penyalur oksigen
Penggaris	Mengukur panjang benih ikan lele
Timbangan	Menimbang bobot benih ikan lele
Thermometer	Mengukur suhu air
DO meter	Mengukur kadar oksigen terlarut dalam air
Nampan	Wadah untuk mengangin-anginkan pakan
Cawan petri	Wadah pencampuran pakan dan probiotik
Jerigen	Wadah pembuatan probiotik
Pipet ukur	Mengukur konsentrasi probiotik dan larutan
Botol spray	Menyemprotkan probiotik pada pakan
Plastik	Wadah pakan yang sudah siap konsumsi
Saringan	Mengambil ikan yang akan disampling
pH Meter	Mengukur kadar keasaman dalam air
Labu kjedahl	Tempat sampel dalam uji destruksi
Labu destilasi	Alat untuk destilasi protein
Beaker glass	Wadah pembuatan larutan
Pipet	Mengambil larutan
Buret	Alat untuk proses titrasi protein

### 3.3 Batasan Variabel dan Cara Pengamatan

Variabel yang diamati dalam penelitian sebagai berikut :

- a) Probiotik adalah suplemen pangan berupa mikroba hidup yang bermanfaat dalam mempengaruhi inang melalui perbaikan keseimbangan mikroba dalam usus (Sunaryanto, 2013). Menurut Simadibrata (2010), mekanisme kerja probiotik adalah memperbaiki dan melindungi kondisi inangnya (hewan dan manusia) antara lain dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Pemberian probiotik dalam pakan adalah salah satu alternatif untuk menghasilkan pakan yang dapat berfungsi ganda dan secara tidak langsung

meningkatkan kualitas pakan. Pertumbuhan ikan akan meningkat jika pakan yang diberikan dapat dicerna dengan baik oleh ikan sehingga energi yang dapat diperoleh ikan dari pakan dapat dimanfaatkan secara optimum.

- b) Ikan lele adalah ikan air tawar yang termasuk salah satu dari enam komoditas yang dipacu pengembangan budidayanya dengan tujuan peningkatan produksi budidaya (Madinawati *dkk.*, 2011). Benih ikan lele yang digunakan berukuran 9-12 cm dengan bobot rata-rata 3-6 gr.
- c) Retensi protein merupakan gambaran dari banyaknya protein yang diberikan dan yang dapat diserap serta dimanfaatkan untuk membangun dan memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak, serta dimanfaatkan oleh tubuh ikan untuk metabolisme sehari-hari (Hendrawati, 2011). Untuk mengetahui nilai retensi protein perlu dilakukan analisis proksimat pada awal dan akhir penelitian. Analisis proksimat awal dilakukan bertujuan untuk mengetahui kadar protein ikan awal, sebelum pemberian perlakuan. Sedangkan analisis proksimat akhir bertujuan untuk mengetahui kadar protein ikan lele setelah pemberian perlakuan. Tujuan dari analisis proksimat ini adalah sebagai salah satu cara untuk mengetahui peningkatan nilai retensi pada ikan lele sebelum diberikan perlakuan dan sesudah diberikan perlakuan.
- d) Pertumbuhan adalah pertambahan jumlah atau ukuran yang bersifat kuantitatif, karena mudah di amati dan bersifat *irreversible* atau tidak dapat kembali seperti semula. Serta dapat dinyatakan dengan angka, grafik, dan sebagainya (Hermawan, 2012). Pertumbuhan ikan dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal meliputi: keturunan, umur, ketahanan terhadap

penyakit, dan kemampuan memanfaatkan makanan, sedangkan faktor eksternal meliputi suhu, kualitas dan kuantitas makanan, serta ruang gerak (Gusrina, 2008). Untuk mengamati pertumbuhan ikan dilakukan dengan cara sampling setiap 7 hari sekali dengan mengambil 30% dari total ikan perlakuan.

- e) Sintasan adalah presentase tingkat kelulushidupan suatu individu. Perhitungan sintasan dilakukan dengan menghitung jumlah ikan uji yang hidup pada akhir percobaan dibagi dengan jumlah ikan uji yang hidup pada awal percobaan dikali 100% (Pujiastuti dan Setiati, 2015).
- f) Parameter kualitas air yang diukur selama penelitian adalah pH, suhu dan DO (*Dissolved Oxygen*) setiap seminggu sekali.

### 3.4 Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen. Metode ini pada umumnya digunakan pada penelitian yang bersifat laboratoris, dilakukan dengan memberikan *treatment* atau perlakuan terhadap subjek penelitian, kemudian dimati dan diukur dampaknya (Jaedun, 2011).

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Sehingga diketahui keefektifan pemberian probiotik pada pakan dalam meningkatkan retensi protein, pertumbuhan serta sintasan benih ikan lele yang dibudidaya. Model yang digunakan adalah :  $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$  Selanjutnya dilakukan analisis varian (ANOVA), apabila terdapat perbedaan keefektifan antar perlakuan maka dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf nyata 5%.

Keterangan :

$Y_{ij}$  : Nilai parameter utama akibat perlakuan ke-i

$\mu$  : Nilai rata-rata (nilai tengah)

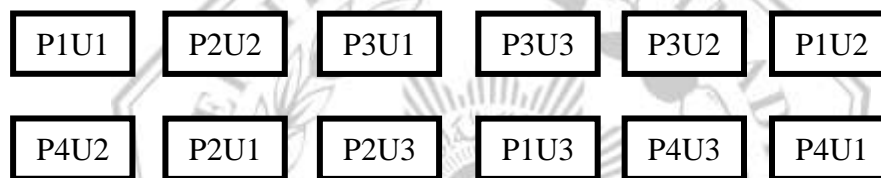
$\tau_i$  : Efek perlakuan ke-i

$\varepsilon_{ij}$  : Efek kesalahan perlakuan akibat perlakuan ke- J

t : Perlakuan penelitian

r : Ulangan penelitian

Denah penelitian yang diacak agar tiap kolom dan baris tidak terdapat kesamaan perlakuan terdapat pada gambar 2.



**Gambar 1. Denah Penelitian**

Keterangan :

P : Perlakuan

U : Ulangan

P1 : Pemberian konsentrasi probiotik 0 ml/kg pakan

P2 : Pemberian konsentrasi probiotik 15 ml/kg pakan

P3 : Pemberian konsentrasi probiotik 30 ml/kg pakan

P4 : Pemberian konsentrasi probiotik 45 ml/kg pakan

### **3.5 Tahapan Penelitian**

#### **3.5.1 Pembuatan Probiotik**

Persiapan pembuatan probiotik adalah sebagai berikut :

1. Membersihkan jerigen berukuran 5 liter
2. Memasukkan 2 butir ragi yang sudah dihaluskan
3. Memasukkan bakteri starter sebanyak 10 gr
4. Memasukkan yakult sebanyak 2 botol
5. Memasukkan air kelapa 250 ml
6. Memasukkan molase sebanyak 250 ml
7. Memasukkan air sebanyak 4,5 liter
8. Menutup rapat jerigen
9. Menghomogenkan probiotik
10. Fermentasi selama 7 hari

#### **3.5.2 Persiapan Wadah**

Penelitian menggunakan akuarium sebanyak 12 buah dengan ukuran 60cm x 30cm x 30cm sebagai wadah uji. Setiap wadah dan peralatan yang akan digunakan seperti selang aerasi, batu aerasi dan serok dibersihkan dahulu, serta media air (Biona) yang akan digunakan untuk ikan uji diendapkan terlebih dahulu selama 7 hari.

#### **3.5.3 Persiapan Media Air Biona**

Tahap persiapan media dilakukan seperti hal dibawah ini mengacu pada Standart Operational Prosedur (SOP) Budidaya Sistem Biona, yaitu sebagai berikut :

1. Akuarium dan peralatan dibersihkan terlebih dahulu
2. Pengisian air setinggi 20 cm
3. Memasukkan garam grosok sebanyak 200 gr
4. Molase (tetes tebu) 15 ml, lebih baik direbus dahulu
5. Probiotik 15 ml
6. Aerasi dihidupkan
7. Didiamkan selama 7 hari (hingga bau molase hilang)
8. Bibit lele dimasukkan

#### **3.5.4 Persiapan Pakan yang Ditambah Probiotik**

Tahap persiapan pakan yang ditambah probiotik dilakukan seperti hal di bawah ini mengacu pada penelitian Wardika *dkk*, (2014) yaitu sebagai berikut :

1. Pakan ditimbang sebanyak 5% dari bobot tubuh.
2. Pakan diletakkan pada cawan petri
3. Probiotik dimasukkan pada botol spray sesuai dengan dosis yang akan digunakan dan ditambah air sesuai takaran agar tidak terlalu pekat. Konsentrasi air yang digunakan sebesar 1000 ml/kg pakan.
4. Probiotik ditambahkan pada pakan dengan cara dispray dan diaduk secara merata.
5. Pakan tersebut kemudian diangin-anginkan kurang lebih selama 10-15 menit agar pakan tidak lembab.
6. Setelah pakan tersebut sudah kering, pakan dimasukkan ke dalam plastik yang telah diberi label.

7. Pakan yang sudah ditambahkan probiotik diberikan pada ikan 2 kali sehari yaitu pagi dan sore hari. Pakan diberikan secara *ad satiation* sebanyak 5% dari bobot tubuh ikan dan setiap pakan yang sisa dilakukan penimbangan.
8. Proses seperti di atas dilakukan setiap 3 hari sekali, jadi pakan yang diberi probiotik tersebut digunakan untuk 3 hari.

### **3.5.5 Penebaran Benih**

Penebaran benih dilakukan pada pagi hari saat kondisi tidak panas. Benih ikan lele yang digunakan dalam penelitian berasal dari petani ikan berukuran 9-12 cm. Benih yang akan ditebar, sebelumnya dilakukan pengukuran panjang dan beratnya lalu dimasukkan pada masing-masing akuarium sebanyak 20 ekor.

### **3.5.6 Pemeliharaan**

Pemeliharaan dilakukan selama kurang lebih 45 hari. Kegiatan yang secara rutin dilakukan adalah pemberian pakan, pengamatan kualitas air, dan pengamatan pertumbuhan. Pakan yang diberikan secara *ad satiation* sebanyak 5% dari bobot tubuh ikan dengan frekuensi 2 kali sehari, pakan yang diberikan berupa pakan pabrikan atau pakan pelet yang telah ditambahkan dengan probiotik sesuai dengan dosis yang sudah ditentukan. Pengamatan pertumbuhan dilakukan dengan pengambilan sampel ikan setiap 7 hari sekali sebanyak 30% dari jumlah ikan pada setiap akuarium. Penyiponan dilakukan jika air sudah terlihat kotor dan apabila kondisi air pemeliharaan sudah tidak layak untuk pemeliharaan maka dilakukan pergantian air kurang lebih hingga 50%.



### **3.5.7 Manajemen Kualitas Air**

Manajemen kualitas air dilakukan setiap 7 hari sekali seperti hal dibawah ini mengacu pada Standart Operational Prosedur (SOP) Budidaya Sistem Biona, yaitu sebagai berikut :

1. Pemberian molase sebanyak 15 ml
2. Pemberian probiotik sebanyak 15 ml
3. Pengecekan kualitas air seperti suhu, pH dan DO

### **3.5.8 Uji Retensi Protein**

Uji retensi protein dilakukan untuk mengetahui jumlah protein pada tubuh ikan. Untuk mengetahui hasil retensi protein perlu dilakukan uji proksimat terlebih dahulu. Uji proksimat dilakukan di Laboratorium Nutrisi UMM dengan menyerahkan sampel ke petugas Laboratorium. Uji proksimat yang pertama dilakukan pada awal penelitian yaitu untuk mengetahui jumlah protein yang ada pada tubuh ikan sebelum dilakukan perlakuan Selanjutnya dilakukan uji proksimat yang dilakukan pada saat akhir pemeliharaan untuk mengetahui kandungan protein pada tubuh ikan setiap perlakuan.

#### **3.5.7.1 Uji Proksimat Protein**

Proses uji proksimat protein dilakukan di Laboratorium Nutrisi Universitas Muhammadiyah Malang dengan tahapan sebagai berikut : (Hastuti dan Handajani, 2017)

##### **1. Destruksi**

- Timbang sampel  $\pm 0,2$  gram lalu masukkan dalam labu Kjedahl.

- Tambahkan 1 gram katalisator (bubuk tablet Kjedaahl), kemudian tambahkan 5 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat didalam lemari asam.
- Destruksi sampai warnanya menjadi hijau jernih dan biarkan dingin.

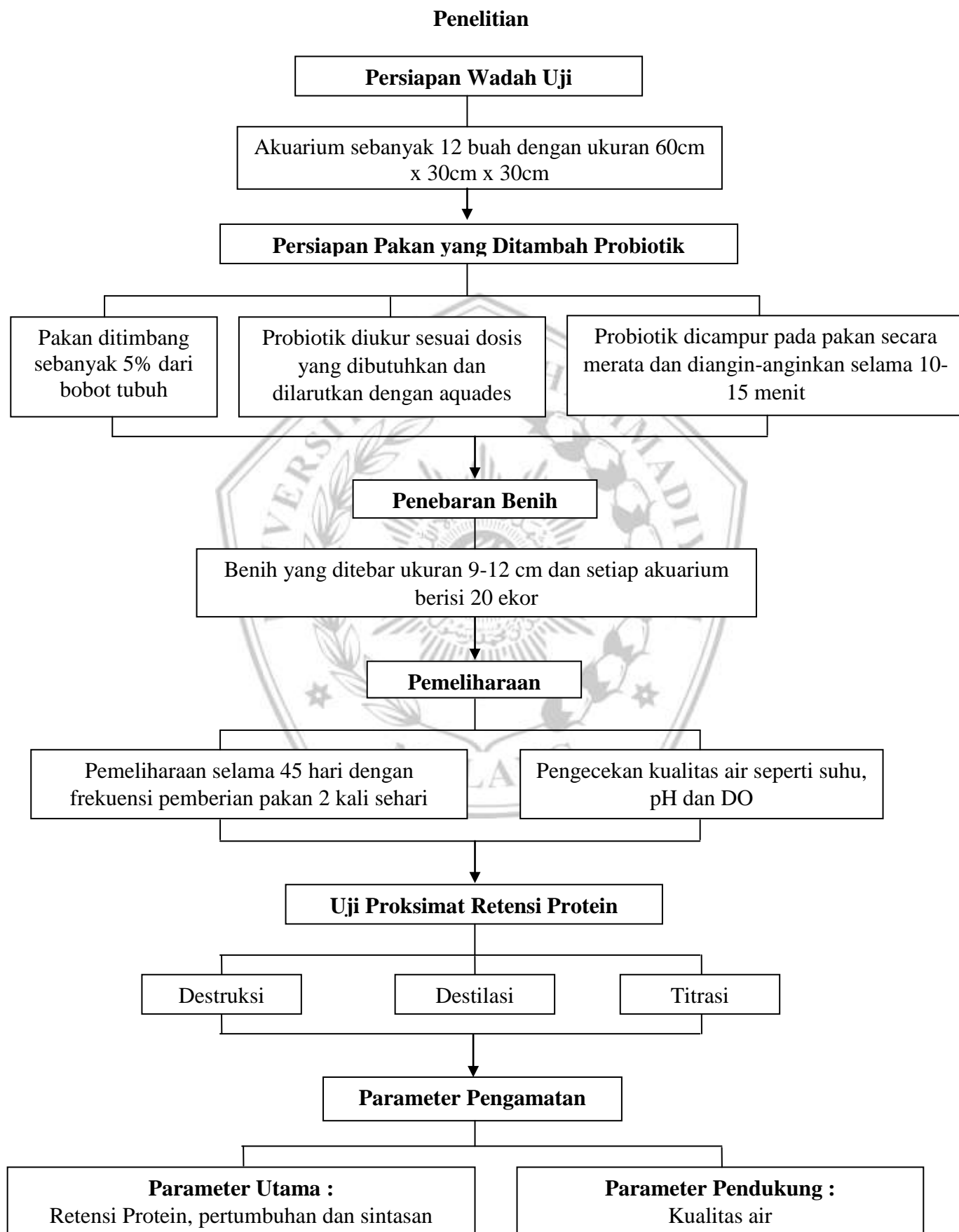
## 2. Destilasi

- Setelah larutan menjadi jernih dan berwarna hijau dingin, labu destruksi diambil selanjutnya diproses destilasi.
- Labu destruksi tersebut ditambah dengan aquades 50 ml, usahakan kalau memberi aquades 3 kali, tetapi volumenya tetap 50 ml, larutan dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambah NaOH 50% sebanyak 30 ml.
- Sulingan/destilat (uap  $\text{NH}_3$  dan air) ditangkap oleh larutan HCl 0,1 N 25 ml yang sudah diberi indikator PP 1% 3 tetes.
- Hasil Sulingan/destilat ditampung dalam beaker glass 250 ml, dihentikan apabila sudah tertampung sebanyak 50 ml.

## 3. Titrasi

- Kemudian titrasi dengan 0,1 N NaOH sampai warna menjadi pink/ merah muda.
- Buat blanko, caranya sama tetapi tidak memakai sampel.

Diagram alur penelitian dapat dilihat sebagai berikut : **Gambar 2. Alur**



### 3.6 Parameter Pengamatan

#### 3.6.1 Parameter Pengamatan Utama

##### 1. Retensi Protein

Retensi Protein merupakan yaitu sejumlah protein dari pakan yang diberikan terkonversi menjadi protein yang tersimpan dalam tubuh ikan. Adapun rumus retensi protein yaitu : (Khalida A, Agustono, dan Widya. P, 2017)

$$RP = \frac{\text{Bobot protein tubuh akhir} - \text{Bobot protein tubuh awal (gram)}}{\text{Bobot total protein yang dikonsumsi (gram)}} \times 100\%$$

##### 2. Pertumbuhan

###### a. Pertumbuhan Berat Mutlak

Pengamatan pertumbuhan berat mutlak ikan lele dilakukan untuk mengetahui tingkat pertumbuhan ikan lele dengan cara mencari rata-rata berat ikan. Pengambilan sampel dilakukan setiap 10 hari sekali, sebanyak 30% dari populasi disetiap akuarium perlakuan.

Perhitungan pertambahan berat mutlak dengan menggunakan rumus :

$$W_m = W_t - W_0$$

Keterangan :

$W_m$  : Pertumbuhan berat mutlak (gram)

$W_t$  : Berat rata-rata akhir ikan uji (gram)

$W_0$  : Berat rata-rata awal ikan uji (gram)

###### b. Pertumbuhan Panjang

Pengamatan panjang tubuh dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan benih ikan lele dengan menggunakan penggaris. Pengamatan pertumbuhan dengan menggunakan rumus yaitu :

$$L_m = L_t - L_0$$

Keterangan :

$L_m$  : Pertumbuhan panjang (cm)

$L_t$  : Panjang rata-rata akhir ikan uji (cm)

$L_0$  : Panjang rata-rata awal ikan uji (cm)

c. Laju Pertumbuhan Berat Harian

Perhitungan pertumbuhan berat harian ikan dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$GR = \frac{W_t - W_0}{t}$$

Keterangan :

GR : Laju pertumbuhan berat harian ikan (gram/hari)

$W_t$  : Berat rata-rata ikan pada setiap pengambilan sampel (gram)

$W_0$  : Berat rata-rata ikan pada awal pemeliharaan (gram)

$t$  : Jumlah hari setiap sampling (hari)

d. Laju Pertumbuhan Panjang Harian

Perhitungan pertumbuhan panjang harian ikan dapat dihitung dengan menggunakan rumus pertumbuhan panjang sebagai berikut :

$$X = \frac{L_t - L_0}{t}$$

Keterangan :

$X$  : Laju pertumbuhan panjang harian ikan (cm/hari)

$L_t$  : Panjang rata-rata ikan pada setiap pengambilan sampel (cm)

$L_0$  : Panjang rata-rata ikan pada awal pemeliharaan (cm)

t : Jumlah hari setiap sampling (hari)

e. Laju Pertumbuhan Spesifik

Laju pertumbuhan spesifik (*Specific growth rate*), adalah pertumbuhan berat ikan yang diukur setiap 10 hari sekali untuk mengetahui pengaruh pemberian pakan terhadap pertumbuhan ikan. Laju pertumbuhan spesifik dihitung dengan menggunakan rumus :

$$SGR = \frac{\ln W_t - \ln W_0}{t} \times 100\%$$

Keterangan :

SGR : Laju Pertumbuhan Spesifik (%/hari)

Wt : Rata-rata bobot ikan uji akhir penelitian

W0 : Rata-rata bobot ikan uji awal penelitian

t : Lama pemeliharaan (hari)

### 3. Sintasan

Sintasan adalah persentase tingkat kelulushidupan suatu individu. Perhitungan sintasan dilakukan dengan menghitung jumlah ikan uji yang hidup pada akhir percobaan dibagi dengan jumlah ikan uji yang hidup pada awal percobaan dikali 100% (Mambrasar *dkk*, 2015). Berikut rumus sintasan :

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan :

SR : Tingkat kelulushidupan ikan / *Survival rate* (%)

Nt : Jumlah ikan uji akhir penelitian

N<sub>0</sub> : Jumlah ikan uji awal penelitian

### 3.6.2 Parameter Penunjang

#### 1. Kualitas Air

Selama proses penelitian dilakukan pengukuran kualitas air dua kali sehari yaitu pada pagi hari pukul 08.00 serta sore hari pada pukul 16.00 WIB dengan parameter kualitas air yang diukur adalah suhu, pH dan DO.

### 3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengujian parameter utama (Retensi Protein, Pertumbuhan dan Sintasan) dianalisis dengan analisis keragaman ANAVA (*Analysis of Variants*) menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Apabila terdapat perbedaan keefektifan pada tiap perlakuan dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf nyata 5%. Data penelitian diolah menggunakan Microsoft Excel© 2010.

